

IFT1/23: Imunofenotypizace

Tento cyklus akreditovaného programu byl realizován v souladu s dokumentem *Plán EHK 2023*.

Vzorky

Vzorky pro tento cyklus byly připraveny na pracovišti subdodavatele. Jednalo se o vzorky čerstvé krve s přidavkem stabilizačních přísad.

Vzorek A: Muž, 44 let, ankylozující spondylartritida (morbus Bechtěrev), od r. 2012 na biologické léčbě anti TNFalfa.

Vzorek B: Žena, 60 let, sekundární protilátkový imunodeficit po léčbě anti CD20 mAb ukončené v roce 2022, při základní diagnóze maligní lymfom.

Komentář supervizora

Tohoto cyklu se zúčastnilo 105 pracovišť, z toho 30 ze Slovenska.

Vztažné hodnoty

Vztažné hodnoty jsou v tomto programu určovány jako konsenzus účastníků.

U kvantitativních výsledků jsou vztažné hodnoty počteny jako robustní průměry výsledků účastníků.

V případě kvalitativních výsledků dochází ke konsenzu tehdy, jestliže se shodne alespoň 80 % všech účastníků.

V případě HLA-B27, kde dochází vlivem stabilizace vzorků ke snížení exprese, platí navíc jedno speciální pravidlo: Je-li vztažná hodnota určena jako *Pozitivní*, jsou jako přijatelné hodnoceny i výsledky *Neprůkazný výsledek (hraniční)*, a to bez ohledu na sílu konsenzu – toto pravidlo bylo zavedeno na podkladě doporučení SLI ČSAKI.

Případné výjimky z uvedených pravidel jsou popsány dále v komentáři.

Vzorek A: Typizace buněk nečinila účastníkům potíže. V případě průkazu HLA-B27 určila většina účastníků (74 %) pozitivní výsledek, avšak konsenzu nebylo dosaženo, i když jen těsně (proto zkouška není hodnocena). Po rozdělení výsledků do skupin podle výrobců reagentů se negativní výsledky vyskytovaly ve všech skupinách (viz statistika na webu).

Vzorek B: Typizace buněk ani zde nečinila potíže (pro B lymfocyty, jejichž počet byl nízký, jsme D_{max} rozšířili na dvojnásobek CV, tedy 42 %). Při průkazu HLA-B27 došlo k jasnému konsenzu (pozitivní).

Výsledky účastníků byly velmi dobré, celková úspěšnost téměř u všech zkoušek byla 90 % nebo vyšší. Nižší úspěšnost (85 %) jsme zaznamenali u NK buněk.

Největší problém byl při stanovení HLA-B27 ve vzorku A, kde očekávaným výsledkem byla pozitivita HLA-B27 u dlouhodobě léčeného pacienta s morbus Bechtěrev.

Edukační část cyklu – měření absolutních počtů buněk

V režimu studie – tedy bez vlivu na dlouhodobé hodnocení – bylo do cyklu zařazeno měření absolutních počtů buněk. Protože byly tyto zkoušky do cyklu zařazeny poprvé, nastavili jsme D_{max} přibližně na dvojnásobek CV. Při tomto nastavení kritérií byla celková úspěšnost u všech zkoušek přibližně 80 %.

Rozptyl výsledků byl u všech zkoušek poměrně velký, CV se většinou pohyboval v intervalu 20 až 25 %.

Zaznamenali jsme 2 zdroje hrubých chyb

1. Chyby přibližně +100 % se objevovaly u účastníků, kteří se naměřené počty pokoušeli „přepočítat“ na původní, neředěný vzorek krve (tj. dopracovat se k výsledku po vyloučení stabilizačního činidla přidaného ke vzorkům). To ale není správné, nic takového nebylo v zadání pro účastníky uvedeno – **výsledky se vydávají pro vzorky tak, jak jsou.**
2. Řádové chyby vykázali účastníci, kteří popletli jednotky a výsledky vydali v jednotce $\cdot 10^6/L$ (neboli počet/ μL). Přitom v dokumentaci k cyklu bylo zdůrazněno, aby účastníci respektovali předepsané jednotky $\cdot 10^9/L$. Prosíme, vždy **uvádějte své výsledky v předepsaných jednotkách.**

Výsledky zatížené výše uvedenými hrubými chybami leží zpravidla mimo plochu Youdenových grafů.

Přibližně 5 účastníků nám zaslalo neočekávaně nízké výsledky – v Youdenových grafech leží vlevo dole od oblasti vyznačující správné výsledky.

Dlouhodobá úspěšnost

V následující tabulce je uveden přehled celkové úspěšnosti účastníků tohoto cyklu za poslední 2 roky. V záhlaví sloupců jsou uvedena jednotlivá pásma úspěšnosti (procento zkoušek, u kterých účastník uvedl správný výsledek). Na dalších 2 řádcích je pak absolutní a relativní počet účastníků, kteří příslušné úspěšnosti dosáhli.

Úspěšnost		0 %	1 - 74 %	75 - 79 %	80 - 89 %	90 - 94 %	95 - 99 %	100 %
Úspěšnost slovy		nevyhovující		přijatelná	dobrá	velmi dobrá	výborná	
Počet	absolutní	0	8	3	8	7	19	60
	relativní	-	7,6 %	2,9 %	7,6 %	6,7 %	18 %	57 %

Poznámka: Svou vlastní celkovou úspěšnost za poslední 2 roky naleznete ve svém výsledkovém listu.

Celková úspěšnost většiny účastníků tohoto cyklu za poslední 2 roky je 80 % nebo vyšší.

Úspěšnost nižší než 80 % je třeba považovat za impuls ke zlepšení.

IFT1/23: Imunofenotypizace**Edukační část cyklu – nejistoty výsledků měření**

Přehled relativních kombinovaných rozšířených nejistot (U_c) uvedených účastníky naleznete níže v tabulce.

Zkouška	Minimum [%]	Průměr [%]	Maximum [%]	n	Minimum [%]	Průměr [%]	Maximum [%]	n
	Vzorek A				Vzorek B			
(253) CD 3+ T lymfocyty	0,74	2,8	10	30	0,74	2,7	10	30
(254) CD 4+ T lymfocyty	1,2	4,1	13	30	1,2	4,1	13	30
(255) CD 8+ T lymfocyty	2,4	6,5	19	30	2,2	6,2	19	30
(256) B lymfocyty	1,6	7,5	30	30	1,6	7,7	30	30
(257) NK buňky	3,3	8,9	29	29	3,3	9,2	29	29
(630) Leukocyty	2,3	4,3	5,8	10	2,3	4,3	5,8	10
(631) Lymfocyty	2,9	6,5	8,6	7	2,9	6,5	8,6	7
(632) CD 3+ T lymfocyty (abs. počet)	2,0	3,4	4,9	4	2,0	3,4	4,9	4
(633) CD 4+ T lymfocyty (abs. počet)	2,3	4,6	6,9	4	2,3	4,6	6,9	4
(634) CD 8+ T lymfocyty (abs. počet)	4,2	11	19	4	4,2	11	19	4
(635) B lymfocyty (abs. počet)	1,5	13	25	4	1,5	13	25	4
(636) NK buňky (abs. počet)	2,3	10	19	4	2,3	10	19	4

Nejistoty svých výsledků uvedlo 31 účastníků, tedy třetina účastníků cyklu.

Průměrné velikosti nejistot mají realistický charakter. Stále ale pozorujeme mezi minimem a maximem řádové rozdíly. Zejména v těchto případech doporučujeme ověřit, zda účastníci do výpočtu nejistoty zahrnuli všechny dílčí nejistoty a zda provádějí pravidelné revize (přepočty) svých odhadů nejistot, případně zda nedošlo k záměně jednotek a zda byla skutečně uvedena rozšířená ($k = 2$) nejistota.

Odborná supervize: Mgr. Karolína Jankovičová, Ph.D.
Fakultní nemocnice Hradec Králové
Ústav klinické imunologie a alergologie
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: karolina.jankovicova@fnhk.cz

MUDr. Helena Posová, CSc.
1. LF UK a VFN
KIA laboratoř ÚLBLD
Karlovo náměstí 32
121 11 Praha 2
e-mail: hmare@lfl.cuni.cz

Přílohy

Jako přílohu této zprávy jednotliví účastníci cyklu dále dostávají:

Název přílohy	Poznámka
Osvědčení o účasti	Dostávají účastníci, kteří splnili podmínky pro jeho vystavení.
Výsledkový list (kvantitativní výsledky)	Dostávají účastníci, kteří uvedli kvantitativní výsledky.
Výsledkový list (kvalitativní výsledky)	Dostávají účastníci, kteří uvedli kvalitativní výsledky.
Komplexní statistika	Pouze pro zkoušky s kvantitativními výsledky a dvěma vzorky.
Výsledky včetně nejistot (v grafech)	Pouze pro kvantitativní výsledky, u kterých účastníci udávají nejistoty výsledků.

Přílohy jsou identifikovány svým názvem, označením cyklu a kódem účastníka a jsou určeny pouze pro potřebu účastníka.

Další informace

Závěrečná zpráva s výjimkou příloh je veřejná. Jak účastníkům, tak ostatním odborníkům, jsou na adrese www.sekk.cz volně k dispozici další informace, zejména:

- Souhrnný přehled výsledků tohoto cyklu včetně této závěrečné zprávy.
- Kritéria (D_{max}) pro hodnocení kvantitativních výsledků.
- Dokument **Plán EHK** (obsahuje informace, které se týkají jak tohoto cyklu, tak EHK obecně).
- Vysvětlení obsahu jednotlivých výše uvedených příloh.
- Kontakt na poskytovatele EHK a na koordinátora EHK a seznam všech supervizorů včetně kontaktů.